

• 专题研究 •

二苯乙烯苷对脑缺血小鼠脑组织含水量及自由基代谢的影响

刘治军 李林* 叶翠飞 艾厚喜

[摘要] 目的 探讨 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(简称二苯乙烯苷)对缺血再灌注小鼠脑保护作用的机理。方法 夹闭小鼠双侧颈总动脉,撤去动脉夹再灌注后迅速断头取脑。采用干-湿重法测定脑组织含水量;应用硫代巴比妥酸法测定脑组织中丙二醛(MDA)的含量,采用亚硝酸盐法测定过氧化物歧化酶(SOD)活性。结果 模型组脑组织含水量明显高于假手术组。二苯乙烯苷灌胃给药各剂量组可降低模型小鼠的脑组织含水量;模型组脑组织 SOD 活性比假手术组降低,MDA 的含量升高;与模型组相比,二苯乙烯苷治疗组 SOD 活性升高,MDA 含量降低。结论 二苯乙烯苷可以减轻脑组织水肿,增加脑组织抗氧化能力,可能具有脑保护作用。

[关键词] 二苯乙烯苷;脑缺血;脑水肿;氧自由基;小鼠

Effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside on water content and the metabolism of free radicals in brain of ischemia mice LIU Zhi-jun, LI Lin, YE Cui-fei, et al. Department of Pharmacology, Xuanwu Hospital of Capital University of Medical Science, Beijing Key Laboratory for Brain Aging, Beijing 100053, China

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of protection of 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside(TSG) on brain. **Methods** The bilateral carotid arteries of mice were occluded and then reperused. The mice were sacrificed to get the brain tissue. Brain water content(BWC) was assayed by dry-wet method; malondialdehyde(MDA) content was determined by thiobarbiturate method and the activity of superoxide dismutase(SOD) was estimated by nitrite salt assay. **Results** BWC of model group was significantly higher than that of sham-operation group, while the TSG treatment reduced the BWC remarkably in mice with ischemia-reperfusion. SOD activity of model group was significantly lower than that of sham-operation group, while MDA content increased remarkably. Comparing with the model group, the SOD activity of mice treated with TSG was higher and the MDA content was lower. **Conclusion** TSG may reduce brain edema, improve the anti-oxidative ability of the brain tissue, and therefore, have protective effects on the brain.

[Key words] 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside(TSG); cerebral ischemia; brain edema; free radicals; mouse

中图分类号:R743,R392.1 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2003)11-0641-02

近年来,随着人们对缺血性脑损伤病理机理认识不断加深,发现氧自由基^[1-3]、兴奋性氨基酸及其介导的钙超载^[4,5]是导致脑损伤的重要因素。大脑缺血缺氧可以通过兴奋性氨基酸及其受体诱导细胞内钙离子增加,钙离子水平的异常增加激活磷脂酶 A₂,导致花生四烯酸(AA)升高;AA一方面与脑缺血后神经源性水肿有关,另一方面促进氧自由基的形成^[6]。钙离子同时过度活化黄嘌呤氧化酶,产生大量的超氧离子,氧化生物膜上不饱和脂肪酸,进一步损伤生物膜的完整性,加重钙离子内流。

二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside, TSG) 是传统抗衰老中药何首乌的主要药效成分之一。我室在前期研究工作中发现,二苯乙烯苷对 β -淀粉样蛋白、叠氮钠和 H₂O₂ 所致的 SK-N-SH 神经细胞损伤模型具有较好的保护作用。本文拟观察二苯乙烯苷对小鼠急性脑缺血再灌注模型动物脑组织含水量及脑组织中过氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的影响,初步探讨二苯乙烯苷的脑保护作用机理。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 二苯乙烯苷(本室自制,HPLC测定纯度为90%);MDA测定试剂盒(北京岳泰生物公司);SOD测定试剂盒(南京建成生物公司)。组织匀浆器(PT-MRI 600E,瑞士);冷冻离心机(Dupont T21,美国);紫外分光光度计(HP8453,美国)。

1.2 动物分组和造模 雄性昆明小鼠,体重22-28g,购自首都医科大学动物实验中心。小鼠随机分为假手术组、模型组、二苯乙烯苷小剂量(0.038g/kg/d)、中剂量(0.114g/kg/d)、大剂量(0.342g/kg/d)组,实验前连

基金项目:1.国家重点基础研究发展计划(973项目)(No. G200057010);2.北京市科委资助首都二四八重大创新工程项目(H010210130113);3.北京市重点科技实验室项目(No. 951890600);4.北京中医药管理局资助北京中医药重点学科项目(2001)。

作者单位:1. 100053 北京市,首都医科大学宣武医院药理研究室,北京脑老化重点实验室(刘治军、李林、叶翠飞、艾厚喜);2. 100730 北京市,卫生部北京医院临床药理基地(刘治军)。作者简介:刘治军(1973-),男,山东潍坊市人,硕士,主管药师,主要从事新药的临床研究。*通讯作者:李林。

续灌胃给药 6 天,假手术组及模型组分别给予等量的自来水。第 7 天进行手术造模,造模采用改良 Levine 法^[7],麻醉中同时给予 10μg 阿托品以减少术中气管分泌。假手术组处理方法同上,但不夹闭动脉。

1.3 前脑组织含水量的测定 采用经典的“干-湿重”法测定前脑组织水分含量。计算公式:

脑组织含水量(%)=(湿脑重量-干脑重量)/湿脑重量×100%

1.4 脑组织中 MDA 含量、SOD 活性的测定 实验方法及含量测定按试剂盒说明进行。蛋白定量按 Lowry 法测定。

附表 二苯乙烯苷对急性脑缺血再灌注小鼠脑组织的影响

组别	n	脑含水量(%)	MDA(nmol/mg prot)	SOD(NU/mg prot)
假手术组	10	77.955±0.133 ^a	1.092±0.151 ^a	52.81±4.81 ^a
模型组	9	78.987±0.405	1.179±0.189	46.67±6.73
低剂量组	10	78.333±0.118	1.158±0.150	50.99±4.24
中剂量组	10	78.011±0.130 ^a	1.002±0.146 ^b	52.17±6.29 ^a
高剂量组	10	78.300±0.134	1.029±0.131 ^b	51.42±4.62

注:与模型组比较,a:P<0.05,b:P<0.01。

3 讨论

近年来的研究认为,再灌注导致的自由基异常升高及其对细胞膜脂质、DNA 和蛋白质的攻击损伤^[8],缺血缺氧引起线粒体功能障碍导致的机体内大量 ATP 依赖的酶活性、分泌、运动、物质转运的异常^[9]是引发脑组织损伤的重要因素之一。一方面,缺血再灌注后突然涌入大量活性氧在黄嘌呤氧化酶的作用下形成大量氧自由基,而机体抗氧化能力相对不足,造成机体处于氧应激状态;另一方面,自由基通过缓激肽-磷脂酶 A₂ 系统、微血管内皮细胞及兴奋性氨基酸-钙离子系统诱发脑组织水肿。我们的结果与这一理论相符。

二苯乙烯苷为多羟基酚类化合物^[10],能够抑制生物膜脂质的过氧化,提高机体 SOD 的活性,从而抑制机体氧应激状态的产生;同时,我们在以前的研究中发现,二苯乙烯苷可以降低脑缺血再灌注沙土鼠脑组织 NMDA 受体结合力,抑制神经细胞内钙超载的发生^[5],发挥脑保护作用。因此,二苯乙烯苷具有一定的脑保护作用,有较好的开发前景。

[参考文献]

[1] Chan PH. Role of oxidants in ischemia brain damage[J]. Stroke, 1996, 27(6): 1124.
[2] Li XJ, Zhang LM, Gu J, et al. Melatonin decreases production of hydroxyl radical during cerebral ischemia reperfusion[J]. Acta Pharmacol Sin, 1997, 18(5): 39.

1.5 统计方法 统计软件为 SPSS 10.0,应用单因素方差分析进行显著性检验。

2 结果

模型组脑组织含水量高于假手术组(P<0.05),而二苯乙烯苷各剂量组可降低模型小鼠的前脑组织含水量,以中剂量组作用最明显(P<0.05)。与假手术组相比,小鼠急性脑缺血再灌注模型组脑组织 MDA 含量增加(P<0.05),SOD 活性减弱(P<0.05),而二苯乙烯苷治疗组能明显减少脑组织中 MDA 的含量(P<0.01),提高 SOD 的活性(P<0.05)。见附表。

[3] 陈志武,马传庚.缺血性脑损伤与钙离子、氧自由基及一氧化氮关系[J].中国药杂志,2002,37(11):803-806.
[4] Globus MYT, Busto R, Dietrich WD, et al. Effect of ischemia on the in vivo release of striatal dopamine, glutamine and GABA studied by intracerebral microdialysis[J]. J Neurochem, 1998, 51(5): 1455.
[5] 刘治军,李林,叶翠飞,等.二苯乙烯苷对脑缺血啮齿动物脑 NMDA 受体及细胞内钙离子的影响[J].中国药理学通报,2003,19(17):1-4.
[6] Bicker PE, Gallego SM, Hansen BM. Development changes in intracellular calcium regulation in rat cerebral cortex during hypoxia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1993, 13(5): 811.
[7] Levine S, Payan H. Effects of ischemia and other procedures on the brain and retina of the gerbil[J]. Exp Neurol, 1966, 16(3): 255-262.
[8] Won MH, Kang T, Park S, et al. The alterations of N-Methyl D-aspartate receptor expressions and oxidative DNA damage in the CA1 area at the early time after ischemia-reperfusion insult[J]. Neurosci Lett, 2001, 301(2): 139-142.
[9] Chan PH, Kawase M, Murakami K, et al. Overexpression of SOD1 in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage after global cerebral ischemia and reperfusion[J]. J Neurosci, 1998, 18: 8292-8299.
[10] Chen Y, Wang M, Rosen RT, et al. 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical-scavenging active components from Polygonum multiflorum thunb[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(6): 2226-2228. (收稿日期:2003-09-17)